

medicina

BUENOS AIRES VOL. 73 Supl. III - 2013



cisteína (NAC, 2.5mM), durante 18h. El D-NO indujo un aumento del % de túbulos seminíferos (TS) con CG apoptóticas (TUNEL) y la NAC previno dicho efecto (media±ESM, medio: 17.10±4.49%, D-NO: 38.36±3.46*, D-NO+NAC: 14.42±2.44^, NAC: 12.68±3.18, *p<0.001 vs medio; ^p<0.01 vs D-NO). El D-NO aumentó el contenido del citocromo c en el citosol (Western blot, Wb, p<0.05), el del fragmento de 37kDa de la caspasa 9 generado durante el proceso de activación (Wb, p<0.05) y su actividad enzimática (kit colorimétrico, media±ESM, % absorbancia vs medio, medio: 100.00±6.48, D-NO: 131.98±4.59, p<0.05). La NAC no impidió la salida del citocromo c al citosol y el clivaje de la caspasa 9. El balance del contenido de las proteínas pro (Bax) y anti-apoptótica (Bcl-2) de la familia de Bcl-2, en la mitocondria, fue similar en los FT incubados en presencia y ausencia de D-NO (p>0.05). En conclusión, demostramos que el ON induce apoptosis de las CG del testículo activando la vía mitocondrial y que este efecto es mediado por el estrés oxidativo. Dado que la NAC no previno la salida del citocromo c ni el procesamiento de la caspasa 9, especulamos que el efecto anti-apoptótico de la misma opera en un paso posterior de esta vía de señalización.

531. (267) EXPRESION ABERRANTE DE LOS COMPONENTES DEL SISTEMA ENDOCANNABINOIDE (SEC) EN ESPERMATOZOIDES (ESPS) DE PACIENTES ASTENOSPERMICOS

Burdet J.¹; Osycka-Salut G.¹; Arenas G.²; Furlan M.³; Mendeluk G.³; Rey Valzacchi G.²; Pérez Martínez S.¹

Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos (CEFyBO) CONICET¹; Centro de Reproducción Asistida PROCREAR-TE²; Laboratorio de Fertilidad Masculina, INFIBIOC, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires³.

La desregulación del SEC podría estar involucrada en la astenospermia, una de las principales causas de la infertilidad masculina. La anandamida (AEA) es el principal EC que ejerce su efecto a través de los receptores CB1, CB2 y TRPV1. La síntesis de AEA es catalizada por la enzima NAPE-PLD y su degradación a través de la FAAH. Se sabe que los hombres infértiles tienen menor concentración de AEA en el plasma seminal que los hombres fértiles. En ratones *faah*^{-/-}, se observó un aumento de los niveles de AEA en el tracto reproductor, junto con una disminución de la movilidad espermática y de su capacidad fecundante. Nuestro objetivo fue caracterizar al SEC en ESPs de pacientes astenospermicos y evaluar su rol en la funcionalidad espermática. Se utilizaron, bajo consentimiento informado, ESPs de donantes normospermicos (N) y ESPs de pacientes con astenospermia idiopática (A) seleccionados por lana de vidrio. Por medio de estudios de Western blot observamos que los ESPs N y A no poseen diferencias en el % de ESP que expresan CB1, NAPE-PLD y FAAH. CB1 y NAPE-PLD presentaron la misma inmunolocalización, sin embargo la FAAH se localizó en la región post-acrosomal y pieza media de la cola en N, mientras que en A la localización varió entre la región post-acrosomal, acrosomal, pieza media y pieza principal de la cola. Además, los ESPs de A presentaron una menor actividad de FAAH con respecto N (p<0,05). El análisis de TRPV1 mostró una disminución de la expresión y de la inmunomarcación en A (p<0,05; p<0,001). Por otro lado, los ESPs de normospermicos fueron incubados con capsazepina (CZP, antagonista de TRPV1) y se determinó la movilidad por medio del sistema CASA. CZP produjo una disminución significativa de la movilidad de N (p<0,05) y la co-incubación con capsaicina (agonista de TRPV1) no revirtió este efecto. Nuestros resultados sugieren que una aberración en el SEC podría tener implicancia en la falla de la movilidad espermática de los pacientes astenospermicos.

532. (268) TRATAMIENTOS DIETARIOS MATERNS ENRIQUECIDOS EN ACEITE DE OLIVA Y DE CÁRTAMO REGULAN VÍAS PRO-OXIDANTES EN HÍGADOS DE FETOS DE RATA DIABÉTICA

Martínez N.; Higa R.; Roberti S.; White V.; Jawerbaum A. Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos (CEFyBO)-CONICET, Universidad de Buenos Aires.

La gestación diabética presenta importantes alteraciones a nivel metabólico y oxidativo, que afectan el desarrollo fetal. Los PPARs son receptores nucleares involucrados en la regulación de procesos anti-oxidantes cuyos ligandos están presentes en aceites comestibles como el aceite de oliva (AO) y de cártamo (AC). El hígado fetal es un órgano blanco del estrés oxidativo materno y es un importante regulador del metabolismo energético. **Objetivos:** Evaluar el efecto de la administración de dietas enriquecidas en AO y AC a ratas gestantes sanas (G) y diabéticas (D), sobre la expresión de PPARα y PPARγ, la producción de NO y la lipoperoxidación en los hígados de fetos machos (M) y hembras (H) provenientes de dichas ratas. **Métodos:** A partir del día 1 de gestación ratas G y D fueron alimentadas con dieta estándar suplementada o no con 6% de AO (contiene 75% de ácido oleico) o 6% de AC (contiene 75% de ácido linoleico). Se obtuvieron los hígados fetales de dichas ratas en el día 21 de gestación. Se dosaron los niveles de nitratos/nitritos (metabolitos estables de NO, reacción de Griess), la lipoperoxidación (TBARS) y la expresión de PPARα y PPARγ (PCR). **Resultados:** La diabetes materna induce un incremento en la producción de NO y de lipoperoxidos en los hígados de fetos M y H (p<0.05), un aumento en la expresión de PPARα (64% p<0.05) y una disminución de PPARγ (30% p<0.05) en hígados fetales provenientes de estas ratas. Los tratamientos dietarios enriquecidos en AO y AC regulan los niveles de NO y de lipoperoxidos de manera genero dependiente, y reducen la expresión de PPARα y PPARγ en dicho órgano (p<0.05). **Conclusión:** La diabetes materna incrementa parámetros prooxidantes/proinflamatorios en el hígado fetal y dietas suplementadas con aceites ricos en ácidos grasos insaturados que activan PPARs, reducen la sobreproducción de NO y la lipoperoxidación, e inducen mecanismos de retroalimentación negativa sobre la expresión de estos receptores nucleares.

533. (276) EVALUACIÓN DE OFERTAS DIETARIAS VARIABLES EN PUFAS N-6 Y N-3 SOBRE LA FISIOLÓGIA REPRODUCTIVA DE RATONES MACHOS

Bianconi S.; Mari M.; Solís R.; Santillán M.; Stutz G. Cátedra e Instituto de Fisiología Humana, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba.

La cantidad y calidad de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) de la membrana espermática reflejan el consumo dietario. Eventos críticos de la fisiología espermática, tales como la maduración, motilidad, reacción acrosomal y acción fusogénica, dependen en gran medida de la composición lipídica de la membrana. En el presente estudio exploramos la influencia de diferentes niveles y relaciones de PUFAs n-6 y n-3 sobre diversos parámetros funcionales de espermatozoides epididimarios de ratones *Albino swiss*. Se emplearon cuatro tratamientos dietarios en ratones hembra durante gestación-lactancia y en sus orígenes machos desde hembra a adultez: **D** (deficiente en n-3; dieta purificada; 7% aceite de girasol; PUFAs:3,48%; n-3:0%; n-6/n-3:0; n=19), **A** (adecuada en n-3; dieta purificada; 7% aceite de soja; PUFAs:3,85%; n-3:0,57%; n-6/n-3:5,7; n=15), **E** (excesiva en n-3; dieta purificada; 7% aceite mezcla: hígado de bacalao 60%+soja 40%; PUFAs:3%; n-3:1,25%; n-6/n-3:1,29; n=15) y **C** (control; alimento balanceado comercial; PUFAs:1,67%; n-3:0,08%; n-6/n-3:19,88; n=15); n= número de animales. Se evaluó: peso corporal; concentración, motilidad y formas inmaduras (acodadas y con gota citoplasmática) en cámara de Makler; vitalidad (coloración supravital H258); prueba de resistencia osmótica y reacción acrosomal espontánea (doble tinción con FITC-PSA+H258). Estadística: ANOVA y LSD Fisher *a posteriori*. El porcentaje de gametas con gota citoplasmática fue superior en **C** vs **D**, **A** y **E** (p<0,05), al igual que el total de formas inmaduras (25,47±3,49%; 15,92±1,97%; 14,87±2,26%; 17,03±2,83%; p<0,05). Si bien se detectaron diferencias en el resto de los parámetros evaluados, estas no alcanzaron significación estadística. El menor aporte de PUFAs dietario, así como la elevada relación n-6/n-3, incrementa el porcentaje de formas inmaduras a expensas de un aumento en el porcentaje de gametas con gota citoplasmática. Estudios posteriores permitirán esclarecer los niveles de PUFAs y la relación n-6/n-3 que optimicen la calidad espermática y la fertilidad.